الفصل الثالث

التزنخ Rancidity

يحدث لليبيدات تغيرات أثناء التخزين ونتيجة لذلك ينتج طعم ورائحة غير مقبولة وهذا ما يعبر عنه بالتزنخ – ويحدث التزنخ بتأثير الهواء (تزنخ أكسيدى oxidative) أو بواسطة الكائنات الدقيقة (تزنخ تحللى Hydrolytic) ويسرع التزنخ الاكسيدى بالتعرض للحرارة والضوء والرطوبة فى وجود آثار من عناصر معينه (نحاس – حديد – نيكل) – ومن المعروف أن الليبيدات تمتص الاكسوجين ويتكون مركبات تظهر خصائص البيروكسيدات وبصفه عامه الماده التى تحتوى عل نسبة عالية من عدم التشبع (رقم يودى مرتفع) تكون سهلة التعرض للتزنخ الاكسيدى وعندما يصل تركيز الهيدروبيروكسيدات إلى حد معين تحدث تغيرات كيماوية معقده وتتكون مركبات متطايرة وهى المسئولة عن إعطاء الرائحة والطعم المتزنخ ويحدث لاغلب الزيوت والدهون زيادة فى الحوضة الحرة Free acidity أثناء التخزين ولكن فى حالة الزيوت المكرره Refined فان مستوى الحموضه الحرة يكون منخفضا بدرجة لا تسمح بظهور التزنخ.

وتجرى إختبارات التزنخ على الزيت أو الدهن المؤكسد كما أنه يمكن تحضير مركبات عاليه فى محتواها من نواتج الاكسده حيث تؤخذ وزنه من إسترات حامض اللينوليك واللينولينيك (١٠٠ مجم من كل حامض نقاوته ٩٨٪) ويجرى لها أكسدة ذاتيه بتعريضها الى أشعة فوق البنفسجية عند درجة حرارة الغرفة – كما تحضر هيدروبيروكسيدات حامض اللينوليك بأكسدة حامض اللينوليك بواسطة إنزيم الليبوأكس جينيز Lipoxygenase – فى الحالة الاولى تكون قيمة البيروكسيد منخفضة على العكس من الطريقة الثانية فتكون مرتفعه – تذاب الاحماض الدهنية المؤكسدة فى خليط مكون هكسان حلقى والاثير (٩: ١ حجم / حجم) .

يدل لفظ الثبات للزيوت والدهون الطبيعية ومنتجاتها على مقاومتها Resistance للاكسدة وبصفه خاصه الاكسده بواسطة أكسوجين الهواء الجوى – ويقدر ثبات الليبيد عاده إما بتقدير معدل تكوين نواتج الاكسده تحت ظروف تساعد على سرعة تكوينها Accelerated conditions (طريقة الاكسجين النشط) أو بتقدير معدل إمتصاص الاكسوجين عند درجات حرارة عالية .

ويجب أن يكون واضحا عند استعمال اختبارات ثبات الدهن التفرقة بين الطرق التى تقدر طول فترة الحفظ وبين التى تستخدم كمقياس Index لمعرفة حالة أكسدة العينه عند وقت الإختبار ومن الطرق التى تحت النوع الاول هى طريقة الاكسجين النشط Active oxygen (AOM) method والطرق المختلفة لتقدير الاكسجين الممتص - بينما تقدير رقم البيروكسيد - إختبار حامض الثيوباربيتيوريك واختبار كريس Kreis تعتبر من أفضل الطرق فى النوع الثانى .

الطرق المستخدمة لتقدير ثبات الزيوت والدهون

جدول(١٤)

الطريقة	نبذه عن طريقة العمل
١ - تقدير الاكسوجين الممتص Oxygen uptake	وفيها يتم إسراع الاكسدة بامرار تيار من الهواء فى العينة أو برفع درجة الحرارة أو كليهما معا وتؤخذ عينات من الزيت أو الدهن على فترات ويقدر لها الحموضة الحره أو رقم البيروكسيد وتوجد طرق أخرى لامتصاص الاكسوجين تعتمد على معرفة الزيادة فى وزن الزيت أو الدهن أو تقدير الانخفاض فى الضغط فى دورق مغلق بجهاز ڤاربورج Warburg .
٢ - اختبار Schaal أو اختبار الفرن	توضع العينة فى كأس ثم تسخن على درجة حرارة عالية (٦٣ - ٧٠م) وتظل على هذه الدرجة حتى تظهر رائحة التزنخ على أن يتم فحص العينة يوميا أو على فترات معينه .
٣ - إختبار حامض الثيو باربيتيوريك .	تعامل العينه بواسطة حامض الثيو باربيتيوريك ويدل كثافه اللون على مدى حالة الدهن أو الزيت المؤكسد.
٤ - إختبار كريس Kreis	تعامل العينه بواسطة جوهر كشاف فلوروجليسينول - وتدل الكثافه اللونيه على مدى حالة الدهن أو الزيت المؤكسد .
٥ - معامل الانكسار	حيث وجد أن رقم معامل الانكسار للزيوت المسخنة يرتفع مطابقا للزيادة فى رقم البيروكسيد .

تابع : الطرق المستخدمة لتقدير ثبات الزيوت والدهون

الطريقة	نبذه عن طريقة العمل
٦ – رقم البيروكسيد Peroxide value	يلاحظ أن رقم ٢٠ ملليمكافئات/ كيلو جرام دهن خنزير أو دهن بقر يدل على نهاية فترة الاعداد .
٧ – إختبار سويفت Swift stability test	يمرر تيار من الهواء فى عينه الدهن أو الزيت عند درجة ٩٨°م ويقدر رقم البيروكسيد كل ساعة .
٨ – الامتصاص فى منطقة الاشعة الفوق بنفسجية U.V. absorption	يخفف ١/٢ سم٣ من محلول الحامض المؤكسد بواسطة ٣ سم٣ ميثانول وتسجل الامتصاصات عند الاطوال الموجبة ٢٣٤ (للروابط الزوجية الثنائية المتبادلة) ٢٧٠ نانوميتر (للروابط الزوجية الثلاثية المتبادلة).
٩ – تفاعل ∝،∝ - Diphenyl - B-Picryl hydrazyl reaction	يضاف الى ٠,٦ سم٣ من العينه ٣ سم٣ من الجوهر الكشاف مخفف بـ٣ سم٣ من خليط المذيبات (هكسان حلقى + اثير) ويقدر الامتصاص عند طول موجه ٥١٧ نانوميتر مستخدما الجوهر الكشاف كبلانك .
١٠ – إختيار الحديد Fe - test	يجرى عمل مخلوط مكون من ٠,١ سم٣ عينه + ٤,٨٥ سم٣ من بنزين – ميثانول (٣:٧ حجم/ حجم) ٠,١ سم٣ ماء + ٣,٦ ميكرومول كبريتات حديدوز مذابه فى ٠,٠٢سم٣ حامض هيدروكلوريك (٣,٦٪) . يضاف ٠,٠٢ سم٣ محلول ثيوسيانات البوتاسيوم (٣٠٪) بعد نصف دقيقه من إضافة كبريتات الحديدوز ثم تقدر كثافة اللون المتكون .

تابع : الطرق المستخدمة لتقدير ثبات الزيوت والدهون

الطريقة	نبذه عن طريقة العمل
١١ - رقم الانيزيدين Anisidine Value	تمزج العينه (٢سم٣) مع ٤ سم٣ محلول ثلاثى كلوريد حامض الخليك (٠.١٥٪ مذابا فى الايثانول) و ٤ سم٣ من بارا أنيزيدين (٠.٢٥٪ مذابا فى الايثانول) - وبعد التسخين على درجة ٦٠مْ لمدة ساعة يقدر الامتصاص عند طول موجه ٤٠٠ نانوميتر ويستخدم الجواهر الكشافه كبلانك .
١٢ - اختبار الهبتانال Heptanal test	ترج العينه (٢سم٣) مع ١ سم٣ ثنائى نيتروفينايل هيدرازين (٠.٠٥٪ فى البنزين) و ١ سم٣ ميثانول و٠.٥سم٣ حامض خليك (٦٠٪ فى البنزين) . تفصل الكميه الزائده من الجواهر الكشاف خلال متبادل كاتيونى ويسجل الامتصاص عند طول موجه ٣٦٦ نانوميتر باستخدام الجوهر الكشاف كبلانك .

وقبل ذكر الاختبارات التى تستخدم فى تقدير تزنخ الليبيدات فانه يلزم معرفة ميكانيكية الاكسدة الذاتيه بصورة مبسطة ومنها نستنتج طبيعة الاختبارات المختلفة المستخدمة فى تقدير تزنخ الليبيدات - وبصفه عامه يمكن تقسيم تفاعلات الاكسده الذاتيه الى قسمين :-

ا - التفاعل الأولى : Primary reaction

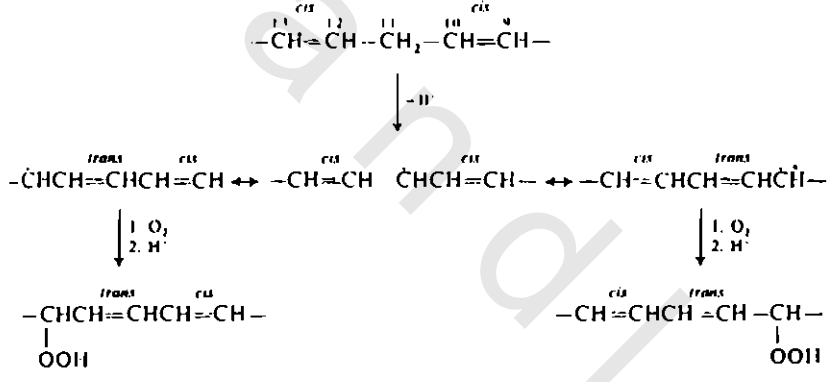
وفيه يتم تكوين هيدروبيروكسيدات الاحماض الدهنية الغير مشبعة وتتم هذه العمليه عن طريق ثلاث خطوات رئيسية وهى : -

أ - فقد ذرة إيدروجين من مجموعة ميثيلين نشطه وهى المجاورة للرابطه الزوجية لتكوين الكيل حر .

ب – حدوث عملية تردد أى تبادل أماكن الروابط الزوجية مع الالكترون للاكيل الحر وبذلك يتغير التركيب الفراغى للروابط الزوجية مع الالكترون للاكيل الحر وبذلك يتغير التركيب الفراغى للروابط غير المشبعه من الصورة المضاهية Cis إلى الصورة المخالفة Trans – كما أنه فى حالة وجود رابطتين زوجيتين أو اكثر فى جزىء الحامض الدهنى فان النظام غير المشبع الغير متبادل Non - conjugated system يتحول إلى النظام غير المشبع المتبادل Conjugated System .

جـ – تفاعل الالكيلات الحرة مع أكسوجين الهواء الجوى واكتساب ذرة إيدروجين من مجموعة ميثلين نشطه من جزىء حامض دهنى آخر لتكوين الهيدروبيروكسيدات .

والمثال التالى يبين ميكانيكية اكسدة ميثايل اللينوليات ذاتيا .



Autoxidation of methyl linolcate

الاكسدة الذاتيه لميثايل اللينوليات

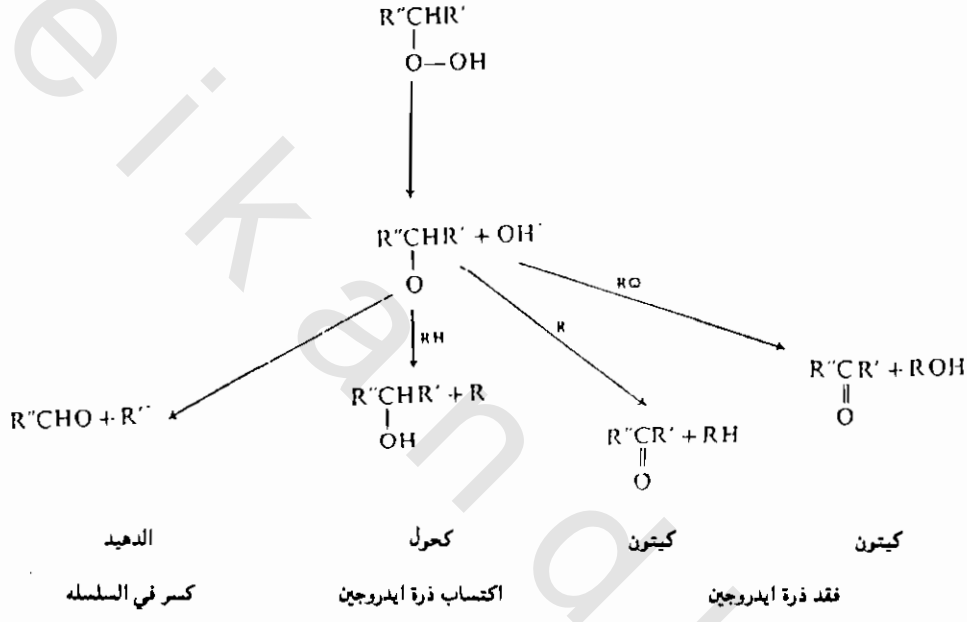
٢ - التفاعل الثانوى Secondary reaction

تعتبر هيدروبيروكسيدات الليبيدات مواد غير ثابته بدرجة كبيرة ولذلك تتعرض لعدة تفاعلات من أهمها ما يلى : –

obeikandi.com

أ – فقد أيون إيدروكسيل وتكوين الكوكسيدات حره .

ب – التفاعل مع الكيلات حره أو الكيل الكوكسى لتكوين كيتونات وكحولات عن طريق فقد أو إكتساب ذرة ايدروجين من ذرة الكربون المحملة بذرة اكسوجين على التوالى . كما يحدث انقسام على جانبى ذرة الكربون المرتبطة بذرة الاكسوجين وتكوين الدهيدات كما فى المثال العام التالى :

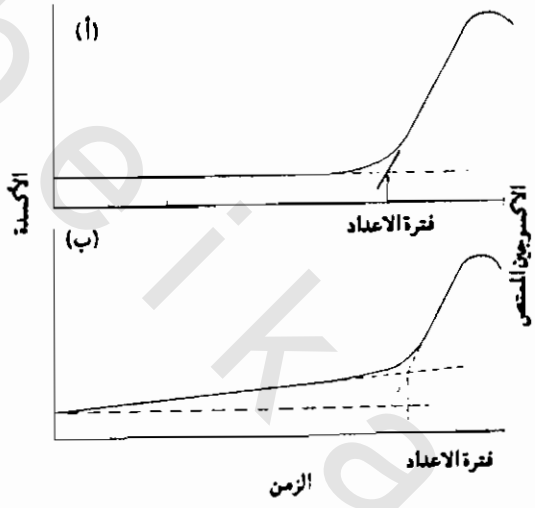


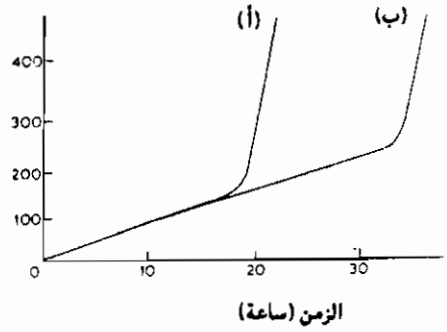
من ذلك يتضح أن تقدير تزنخ الليبيدات يعتمد على تقدير نواتج الاكسده الأولية والثانوية كما يلى :

اختبار سيلفستر : Sylvester test

يعتمد هذا الاختبار على وضع عينه الدهن أو الزيت فى وعاء مغلق Closed vessel الذى يسخن على درجة ١٠٠م بواسطة حمام مزود بثرموستات ويحرك Shaken باستمرار ويتفاعل اكسوجين الهواء الجوى فوق الزيت أو الدهن ببطء بواسطة الزيت أو الدهن حتى يصبح مؤكسدا وتسجل كمية الاكسوجين الممتص مع الوقت ، ومن المعروف أن الاكسدة تحدث فى بداية الامر ببطء نتيجة حماية الزيت بواسطة المواد المضاده للأكسدة الموجودة به وعندما تستنزف Exhaust المواد المضادة للاكسدة تزداد سرعة الاكسدة تدريجيا Progressively .

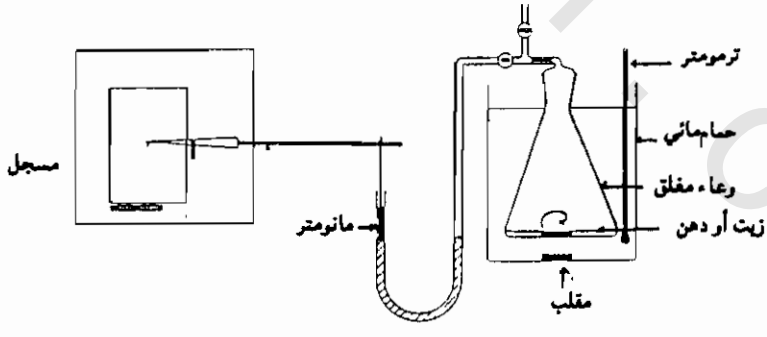
يبين منحنى إمتصاص الاكسوجين مع الوقت حدوث كسر واضح distinct break وعنده تتم نهاية فترة الاعداد Induction Period كما هو واضح فى الرسومات التالية :





الاكسوجين المتص لزيت الذرة (أ) وزيت الذرة محتويات علي مادة مضادة للاكسدة (ب)

امثلة توضح منحنيات فترة الاعداد



جهاز لامتصاص الاكسوجين المستخدم بواسطة إختبار سيلفستر

obeikandl.com

طريقة ثاربورج لتقدير الاكسوجين الممتص بواسطة الليبيدات

الاساس النظرى لجهاز ثاربورج

يعتمد تقدير غاز الاكسوجين الممتص لنظام مغلق Closed system على أن تكون درجة الحرارة ثابتة ويقدر أى تغير فى حجم الغاز الممتص بواسطة التغير فى الضغط – وعموما يقدر حجم الاكسوجين الممتص عند ضغط معين وثابت وأن تكون درجة الحرارة ثابته خلال فترة التجربة – وبصفه عامة تعتمد طريقة ثاربورج على قانونين :

١ – القانون العام للغازات

الضغط × الحجم = ثابت الغاز × درجة الحرارة المطلقة .

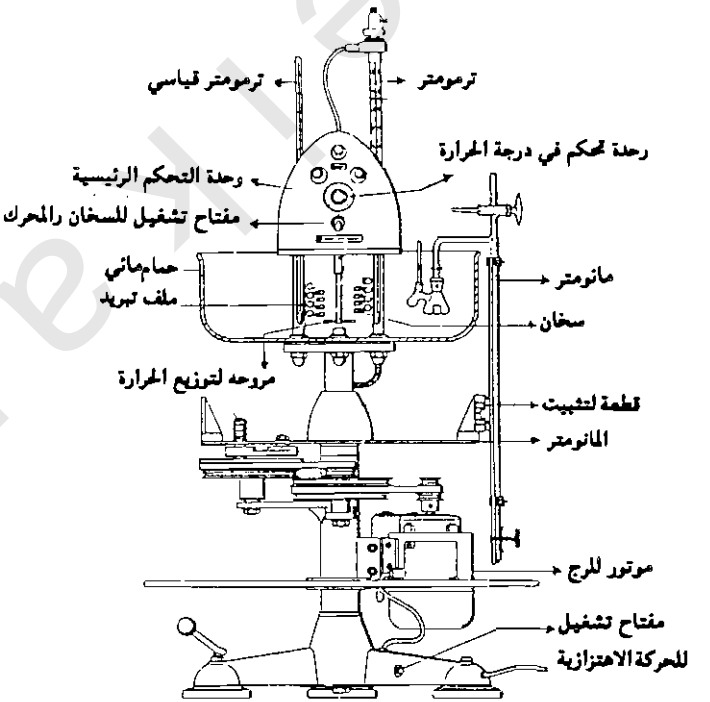
٢ – قانون هنرى : الذى ينص على أن ذوبان أى غاز فى سائل ما يتناسب طرديا مع الضغط الجزئى لهذا الغاز .

وعلى ذلك فإن الاساس النظرى لجهاز ثاربورج يعتمد على قياس التغير فى الضغط الناتج من امتصاص حجم معين من الاكسوجين خلال التفاعل على أن يظل حجم النظام ثابتا وعند درجة حرارة ثابته ايضا .

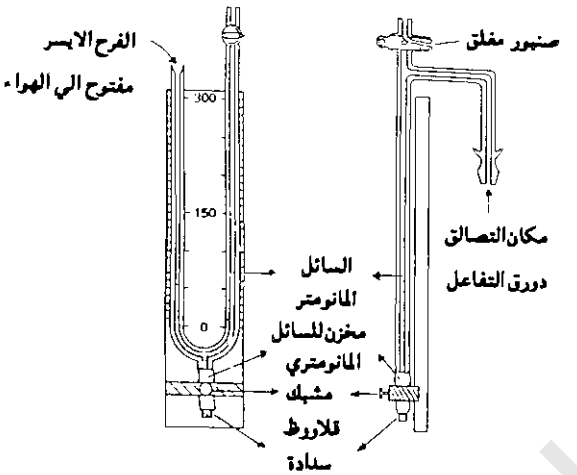
ولتحويل ملليمترات الضغط الى ميكرولتر غاز تضرب قيمة التغير فى الضغط فى عامل ثابت (K) كما هو مبين بطريقة الحساب .

جهاز ثاربورج : Warburg apparatus

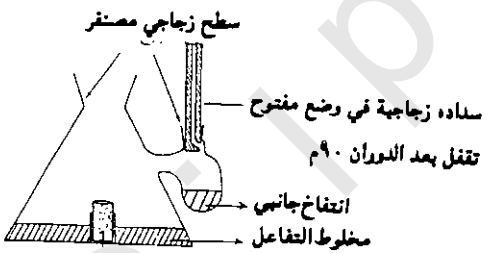
يستخدم جهاز ثاربورج لقياس غاز الاكسوجين الممتص بواسطة الليبيدات وذلك بتقدير التغير فى الضغط لانبوبة شعرية لمانومتر فى نظام مغلق يظل على حجم ودرجة حرارة ثابتين – يتكون الجهاز من عدة وحدات (عادة ١٤ وحدة) كل وحدة يطلق عليها مانومتر Manometer والمانومتر عبارة عن أنبوبة شعرية على شكل حرف U ذات طول ٣٠ سم وقطر٢٥ .١مم – يتصل الفرع الايمن Right Limb الذى يحمل من أعلى صنبور Tap بدورق التفاعل Reaction vessel بواسطة ذراع جانبى side arm ويكون الفرع اليسارى من المانومتر مفتوحا للهواء الجوى .



جهاز فاربورج



مانومتر جهاز فاربرج



وعاء مركزي يحتوي علي ١٠٪ بو أ يد
علي ورقة ترشيح لامتصاص ك أ ٢
وعاء التفاعل لجهـــاز فاربورج

يوضع المانومتر على لوح ومثبت على اللوح تدريج مقسم إلى سنتيمترات ومليمترات (غالبا ماتسجل القراءات بالمليليمترات) ويبدأ تدريج هذا المقياس فى معظم المانومترات من المنتصف أى يبدأ التدريج بحيث يكون فى منتصف المانومتر الصفر ويمتد ١٥٠ مم على جانبى الصفر ومن المعروف أن القراءات التى تحت الصفر تكون سالبه أى يحدث إمتصاص لغاز الاكسوجين بينما القراءات التى فوق الصفر تكون موجبه أى يخرج النظام فى الدورق غاز .

يوضع السائل المانومترى الذى يكون ملونا لتسهيل أخذ القراءه ومحتويا على منظف لتسهل حركته داخل المانومتر فى مستودع مطاط Rubber reservoir مثبت فى قاع المانومتر - ويمكن التحكم فى مستوى السائل فى المانومتر بواسطة مقبض قلاووظ مثبت فوق المستودع المطاطى الذى يجب أن يحتوى على كمية من السائل المانومترى تكفى لملأ الفرع الايمن باكمله . وعادة يكون دورق التفاعل ذو شكل مخروطى وسعته من ١٥ - ٢٠ سم٣ ومثبت به أنبوبة قصيرة مركزية Central well ويتصل بالدورق إنتفاخ صغير جانبى Side bulb ويلاحظ أن دورق التفاعل يثبت فى المانومتر بواسطة سوستة معدنية Steel spring .

ويمكن الحصول على درجة حرارة ثابتة خلال فترة التجربة بغمر دورق التفاعل فى حمام مائى مزود بثرموستات لضبط درجة الحرارة - وللتأكد من إتزان الغازات خلال التبادل الغازى يحرك المانومتر ذهابا وإيابا to and fro بواسطة جهاز تحريك حيث ترج الدوارق مع المانومترات أفقيا بسرعات تصل ما بين ١١٠ - ١١٥ هزة Oscillation فى الدقيقة بمسافة تصل من ٣ - ٤ سم .

ونظرا لان الفرع الايسر للمانومتر مفتوح للهواء الجوى فان ضغط النظام يتأثر بتغير الضغط الجوى وأيضا يتأثر بتغير درجة حرارة الحمام - وحيث أن كل هذه التغيرات تؤثر بدرجة واحده على كل المانومترات فانه يضاف مانومتر كبلانك لتقدير التغير فى الضغط الجوى أثناء التجربه ويسمى Thermo barometer ويجب أن يحتوى هذا المانومتر على حجم من السائل مثل الموجود فى دوراق التفاعل - وتسجل التغيرات فى الضغط بواسطة المانومتر (البلانك) ويطرح حسابيا من الارقام المسجلة من مانومترات التجارب .

طريقة العمل :

١ - توضع العينات فى دوارق ثاريورج .

٢ - توصل الدوارق مع المانومترات المقابلة بعد تشحيمها للتأكد من عدم التنفيس وتثبيتها بالسوست المعدنيه ويجب أن تكون صنابر المانومترات مفتوحه .

٣ – توضع المانومترات فى الحمام المائى ذو درجة حرارة معينه مضبوطة بواسطة ثرموستات .

٤ – ترج المانومترات لمدة ٥ دقائق لكى يحدث اتزان .

٥ – فى حالة الرغبة فى إمتصاص أكبر حجم ممكن من الاكسوجين داخل جهاز ڤاربورج يخفض مستوى سائل المانومتر حتى بالقرب من نهاية المانومتر التى على شكل حرف U تقفل صنابر المانومترات – برفع السائل المانومترى حتى يصل إرتفاعه فى الفرع الأيمن (المتصل بالدورق) الى علامة الصفر – تؤخذ قراءة السائل المانومترى فى الفرع اليسارى .

٦ – للحصول على القراءات المتتالية بعد فترات زمنيه معينه يجرى :–

أ – يوقف رج المانومترات .

ب – يرفع السائل المانومترى بحيث يكون القراءة على الفرع الأيمن تساوى صفر .

جـ – تؤخذ القراءة من الفرع اليسارى .

طريق الحساب :

لمعرفة كمية الاكسوجين الممتصه على أساس ملليمول يجرى الاتى : –

١ – تسجل قراءات المانومترات (وهى التى تحتوى على الزيت وأيضا البلانك) على فترات مختلفه بـ ميلليمتر (h) .

٢ – يحسب التغير فى القراءات مع الزمن أى تطرح قيمة القراءة عند بداية التجربة Δ h لتعديل التغير فى الضغط الجوى .

٣ – يضرب التغير فى القراءة Δ h فى ثابت المانومتر للحصول على الاكسوجين الممتص بالميكرولتر فى حجم أو وزنة العينة ثم تطرح قيمة Δ h للبلانك من Δ h للعينات للحصول على كمية الاكسوجين الممتصه المضبوطه μo_2/ Sample

٤ – تحسب كمية الاكسوجين الممتص بالميلليمول من معرفة أن الوزن الجزىء لاى غاز يشغل ٢٢٫٤ لتر تحت نفس الظروف كالاتى :

$$mM\ 0_2/L = \frac{\Delta\ h \times k}{22.4}$$

obeikandl.com

ولحساب ثابت المانومتر k تستعمل المعادله التالية :

$$k = \{ (Vg \times (273/T) + (Vf \times a) \} Po$$

حيث أن :

Vg = حجم الغاز الكلى فى المانومتر (الدورق + الانبوبة الشعرية حتى نقطة الصفر) .

T = درجة الحرارة المطلقة للحمام المائى = ٢٧٣ + t

إذا كانت t = ٣٠مْ فأن :

T = ٢٧٣ + ٣٠ = ٣٠٣مْ

Vg = حجم السوائل أو العينات داخل المانومتر ٢ سم٣ = ٢٠٠٠ ميكرولتر .

a = معامل إتصاص الاكسوجين فى العينة أو المحلول

= ٠,٠٢٦ عند درجة ٣٠مْ

Po = الضغط العادى بالميللترات (٧٦٠ مم زئبق) لسائل المانومتر وحيث أن كثافة السائل ١,٠٣٤ وأن كثافة= الزئبق ١٣,٦٠ حجم / سم٣ فان .

$$Po = \frac{٧٦٠ \times ١٣,٦٠}{١,٠٣٤} = ١٠٠٠$$

والمثال العددى يبين كيفية الحساب لكمية الاكسوجين المتص

جدول(١٥)

الزمن (دقيقة)	درجة الحرارة مْ	مانومتر	البلانك	مانومتر	التجربة	Δh المضبوطة	$\mu 0_2$ hxk
		القراءة	Δh	القراءة	Δh		
صفر	٣٧	١٥٠	صفر	٢٠٠	صفر	صفر	
٥	٣٧	١٤٨	٢ –	١٩٢	٨ –	٦ –	
١٠	٣٧	١٤٩	١ –	١٨٧	١٢ –	١٢ –	
١٥	٣٧,١	١٥٣	٣ +	١٨٥	١٦ –	١٩ –	
٢٠	٣٧,١	١٥٣	٣ +	١٧٩	٢١ –	٢٤ –	
٢٥	٣٧	١٥٠	صفر	١٦٩	٣١ –	٣١ –	

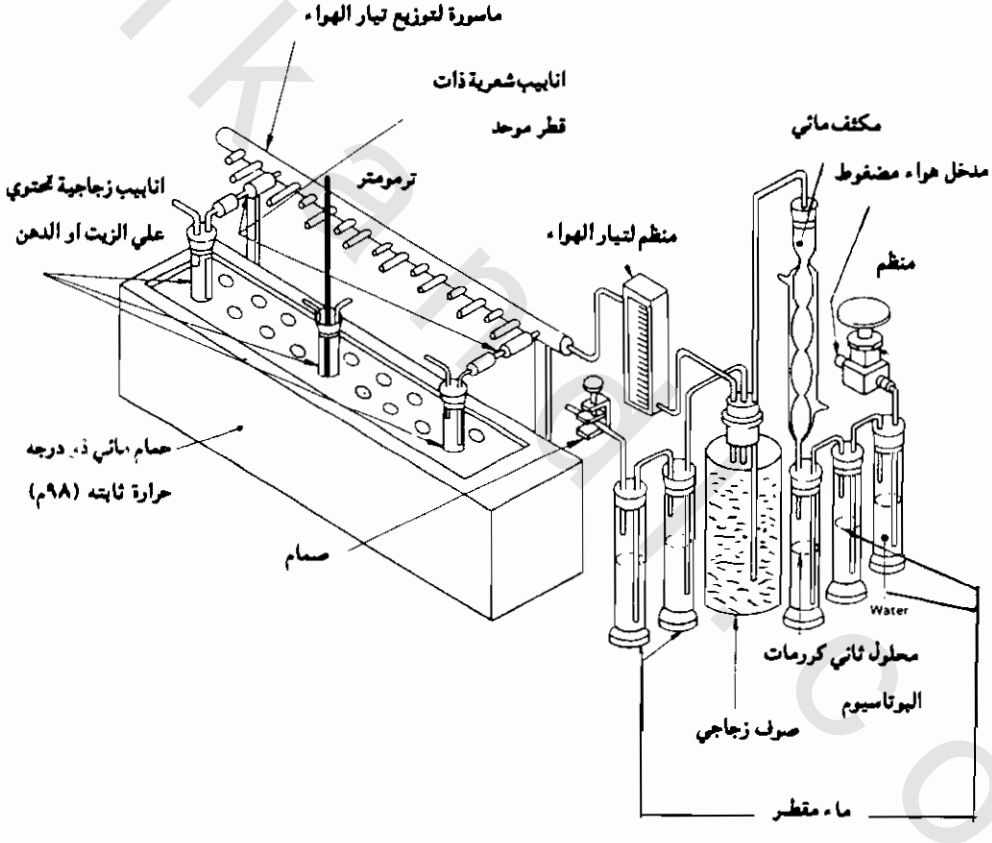
obeikandl.com

طريقة الاكسجين النشط

The active Oxygen method

اختبار سويفت : Swift test

إن الاساس الذي يبني عليه إختبار سويفت أو طريقة الاكسوجين النشط Active Oxygen Method (AOM) يختلف عن إختبار سيلفستر – حيث أنه في هذه الطريقة يمرر تيار من الهواء خلال زيت مسخن علي درجة حرارة ثابته وهي ٩٨م . وتؤخذ عينات من الزيت علي فترات زمنية مختلفة ويقدر فيها رقم البيروكسيد – ثم يرسم العلاقه ما بين رقم البيروكسيد والزمن ثم تحسب فترة الاعداد كما سبق ذكره في طريقة سيلفستر .



يستخدم جهاز سويفت Swift لتقدير الاكسجين النشط كما هو مبين بالرسم السابق ويتكون جهاز سويفت من الاجزاء التالية :

١ – حمام مائي أو سخان ذو درجة حرارة ثابته Constant temperature bath يعطي العينات جميعها درجة حرارة ٩٧.٨مْ أو ١١٠م ± ٢.٠مْ .

٢ – أنبوبة متفرعة لتوزيع الهواء Air distributing manifold وتصنع هذه الانبوبة من الحديد غير القابل للصدأ – النيكل – الومنيوم أو الزجاج .

٣ – أنابيب زجاجية شعرية Glass capillary tubes يجب أن تكون ذات سمك واحد وتعطي جميعها نفس معدل السريان (± ١٠٪) عند كل مدخل عندما يضبط مرور الهواء الكلي عند ٢.٣٣سم^{٣} لكل ثانية .

٤ – وسائل لتنقية الهواء Air purification

A : تمثل انبوبة مدخل الهواء من كباس هواء ومزوده بصمام تحكم لمرور الهواء .

B : عمود لغسل الهواء عبارة عن مخبار قطره ٥ سم وارتفاعه ٣٧.٥سم يحتوي علي ماء.

C : عمود لغسل الهواء عبارة عن مخبار قطره ٥ سم وإرتفاعه ٣٧.٥ سم يحتوي علي ٢٪ ثاني كرومات البوتاسيوم في ١٪ حامض كبريتيك ويملأ المخبار حتي إرتفاع ٢٥ سم ويغير المحلول بعد ٧٢ ساعه من العمل المستمر .

D : عمود لغسل الهواء عبارة عن مخبار قطره ٥ سم وارتفاعه ٣٧.٥ سم ويحتوي علي ماء ويمليء المخبار بالماء حتي إرتفاع ٢٥سم ويغير الماء في بداية ظهور لون أصفر .

E : مكثف لتبريد الهواء .

F : مصيده Trap عبارة عن زجاجة ذات فوهه واسعه تحتوي على صوف زجاجي .

G,H : أعمده لتنظيم الضغط عبارة عن مخابير قطرها ٥ سم وإرتفاعها ٣٧ر٥سم تحتوي علي ماء مقطر وتمليء بالماء حتي إرتفاع ٢٠ سم ويمكن أيضا تنظيم الضغط عن طريق منظم توزيع Regulating Valve .

أخذ العينه :

١ – في حالة الدهن المعبأ يجب أن تكون العبوة غير مفتوحة – وإذا وجدت الدهون في أوعيه كبيرة أو جهاز تصنيع فتؤخذ العينه بوسيلة معينه بحيث تكون نظيفه ومصنوعه من الحديد غير قابل للصدأ – الالومنيوم – النيكل أو الزجاج .

٢ – يجب أن تؤخذ عينات الدهن الصلب علي الاقل علي بعد ٢ بوصة من جدار الوعاء الكبير وعلي بعد واحد بوصه من الوعاء الصغير .

٣ – في حالة الزيت فانه يجب تنظيف فوهة الوعاء بقطعة قماش نظيفة مبلله بالاسيتون ثم يصب كميه من الزيت ثم تؤخذ بعد ذلك العينه .

٤ – بعد أخذ العينات من العبوات أو أجهزة التصنيع يجب أن توضع في أوعية زجاجية نظيفه ويجب عدم إستعمال غطاء لها مصنوع من البلاستيك أو تغطي بالورق وأن تحمي العينات من الحرارة والهواء بقدر الامكان .

ويجري تنظيف الاوعيه لوضع العينات بان تسخن أولا لنوبان أي دهن من التقدير السابق ويهمل ثم تغسل بمذيب عضوي ويفضل إثير البترول إذا كان الرقم اليودي للدهن ١٠٠ أو أقل وما عدا ذلك يستعمل الاسيتون يحضر محلول منظف (١٪) ويفضل المنظف من النوع الذي لا يترك متبقي علي الزجاج ويوضع هذا المحلول في حمام مائي ثم يسخن تقريبا للغليان ويستعمل هذا المحلول المنظف في تنظيف جميع الوصلات الزجاجيه والسدادات باستعمال الفرشاه ثم تنقع داخله وتترك لمدة نصف ساعة – ثم تغسل بماء الصنبور ثم بالماء وتجفف باستعمال فرن علي درجة ١٠٠ مْ .

الطريقة Procedure :

يجب أن تذكر درجة الحرارة المستخدمة والمقصود بها درجة الدهن المسخن وليس درجة حرارة الحمام المستخدم ويجب التحكم في درجة الحرارة أثناء التسخين وإمرار الهواء في العينه وكذلك النظافه العاليه ومنع الشوائب مع توخي الحرص الشديد وإلا تصبح النتائج غير دقيقه . وفي حالة حدوث أي خطأ فان النتائج باستعمال هذه الطريقة تكون أقل من القيم المتوقعه .

١ – يوضح في كل أنبوبة (٢.٥ × ٢٠ سم٢) ٢٠ سم زيت أو دهن مصهور ويبين علي الانبوبة علامة لارتفاع ٢٠ سم .

٢ – توضع أحد الانابيب في الحمام الذي سبق تسخينه إلي درجة الحرارة المطلوبة ثم توضع أنبوبة الهواء Aeration Assembly ثم توصل بنظام مرور الهواء تقفل الانبوبة الاخري وتحفظ علي درجة حرارة منخفضة حتي يبدأ تسخينها ويبدأ نظام التسخين طبقا للمعلومات التالية :

وقـت الحفـــظ	فترات التباعد Spacing of tubes
صفر – ١٦ ساعه	تترك علي حده لمدة ١ ساعة
١٦ – ٣٢ ساعه	تترك علي حده لمدة ٢ ساعة
٣٢ – ٥٠ ساعه	تترك علي حده لمدة ٣ ساعة
أكثر من ٥٠ ساعه	تترك علي حده لمدة ٤ ساعة

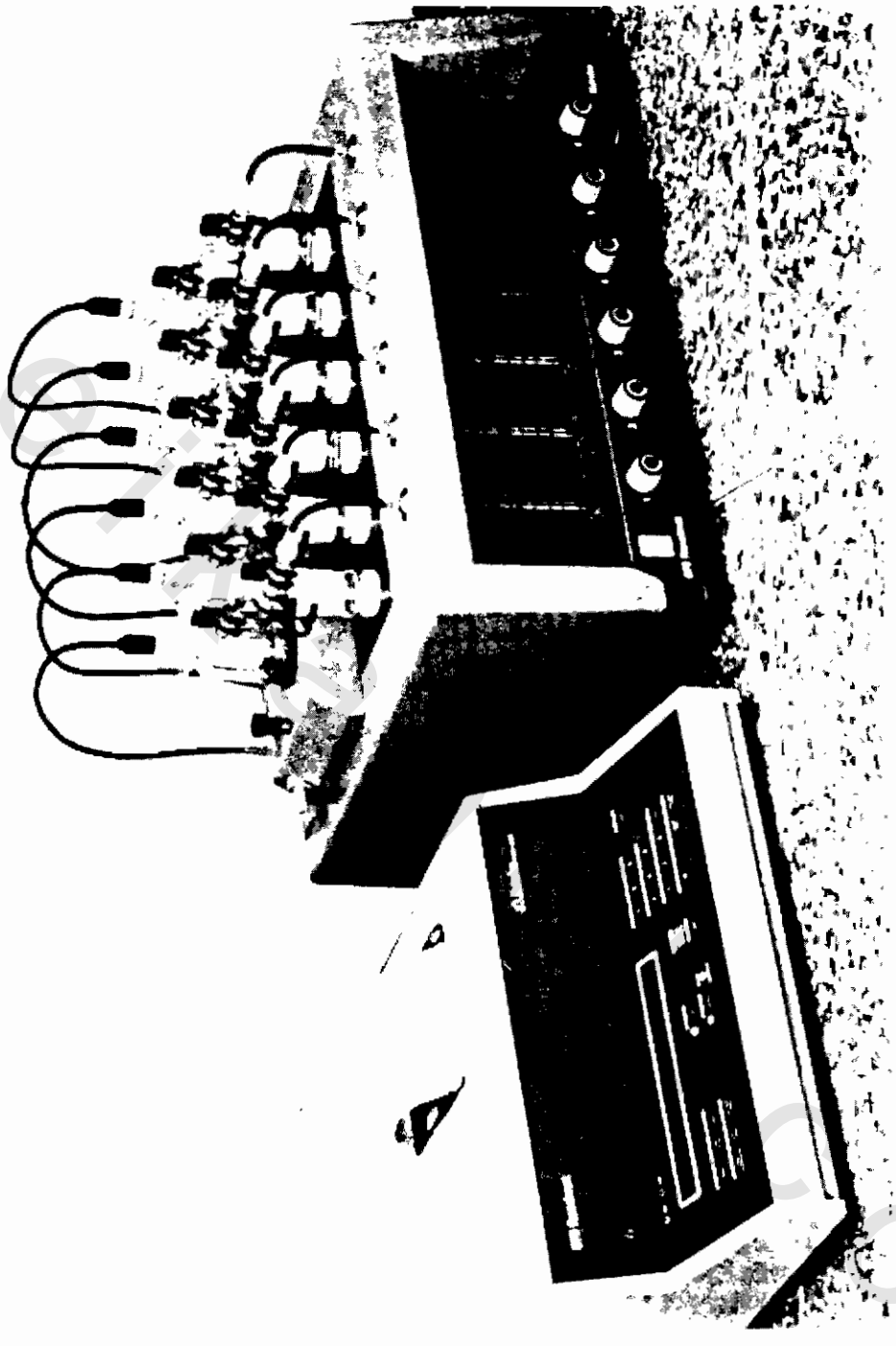
٣ – تترك محتويات الانابيب عند درجات الحرارة المعينه ويجري الكشف باستمرار علي الانابيب للتأكد من مرور الهواء كما يجب .

٤ – تستمر عملية التسخين والتهوية حتي يصل رقم البيروكسيد إلي النقطه التي تطابق تزنخ الدهن وهي تبعا للطرق القياسية ١٠ ميللمكافيء/ كيلو جرام دهن عمليا ونقطة النهاية تساوي ٢٠ ميللمكافيء/ كيلو جرام في حالة دهن الحيوان غير المهدرج ، ٧٥ – ١٢٥ للزيوت والدهون المهدرجة الاخري وأنه يمكن استمرار عملية التسخين والتهوية بدون إنقطاع حتي نقطه النهاية End point واذا لم يكن ذلك مستطاعا فانه يجب حفظ الانابيب مباشرة تحت برودة عاليه Chilled بعد رفعها من الحمام وتبقي علي هذه الحالة حتي يستأنف التسخين مرة اخري .

٥ – عند الوصول الي نقطة النهاية يقدر رقم البيروكسيد للعينه ويعبر عن الثبات بعدد الساعات (بعد تقريبها الي أقرب ساعه) اللازمه للوصول إلي رقم بيروكسيدي معين .

٦ – بعد إجراء الطريقة عدة مرات فانه بهذه الطريقه يمكن تحديد نقطة النهاية عن طريق شم رائحة الهواء الخارج من أنبوبة العادم Exhaust حيث تعطي دليل جديد لتحديد هذه النقطه ولكن نظرا لاختلاف الاشخاص في حساسية تحديد هذه الرائحة فأنه لا يمكن قبول الرائحة كصفة نهائية لتحديد نقطة النهاية .

يعمل جهاز الرانسيمات Rancimate علي نفس فكرة جهاز سويفت . يقدر هذا الجهاز مدي ثبات زيوت ودهون الطعام والمنتجات التي تحتوي علي نسبة عالية من الدهون مثل النقل Nuts وزبده الكاكاو ضد الاكسده Oxidation stability بسرعة وأوتوماتيكيا وبدقه عالية .



جهاز الرنسيمات

وتعتمد الفكرة الاساسية لهذا الجهاز علي إمرار تيار مستمر من اكسوجين الهواء (٣ - ٣٠ لتر/ ساعة) في عينات الزيت أو الدهن (جرامات قليله أو ملليمترات قليلة) عند درجة عالية (١٠٠ - ١٤٠م) حيث تبدأ Onset الاكسدة الانقسامية بسرعة Oxidative degradation وتنتج أحماض عضوية التي تنقل الي دوارق معيارية Measuring flasks حيث ترتبط Captured مع كمية من الماء ويكشف عنها عن طريق التوصيل الكهربائي Conductivity ويعرف الوقت الذي يمر من بداية الاختبار حتي ظهور تغير واضح في التوصيل الكهربائي بفترة الاعداد وهي خاصية تدل علي مقاومة Resistance عينه الزيت أو الدهن للتزنخ . ويمكن معرفة وقت الاعداد لعينات الزيت أو الدهن في خلال ساعات قليلة إلي بداية الاكسده الانقسامية.

ويستخدم هذا الجهاز فيما يلي :

١ - معرفة مدي كفاءة المواد المضادة الاكسدة المضافة إلي الاغذية بسرعة .

٢ - معرفة الظروف المناسبه لحفظ وتداول الزيوت والمنتجات الدهنيه عن طريق نتائج التحليل الدقيقة .

٣ - تأثير إنتشار الاكسوجين خلال مواد عديده معبأه Packaging materials تستخدم في تعبئة الأغذية المصنعه .

٤ - تقييم عمليات تكرير Refining الزيوت وعمليات التصنيع الاخري للحصول علي الزيت المكرر .

٥ - يمكن معرفة الوقت اللازم لتخزين وتصنيع المواد ذات نوعيه رديئه Poor quality.

٦ - وضع المواصفات الدقيقة Decision criteria عند شراء الزيوت والمواد الدهنية الخام Raw وكذلك المواد المصنعه والوسيطه Intermediate and Finished .

وفيما يلي خطوات تشغيل الجهاز :

١ - يوضع عدد ٦ عينات في مخابير التفاعل .

٢ - توضع العينات داخل غرفة Compartment التي تسخن بطريق غير مباشر بواسطة حمام زيتي مزود بثروماستات .

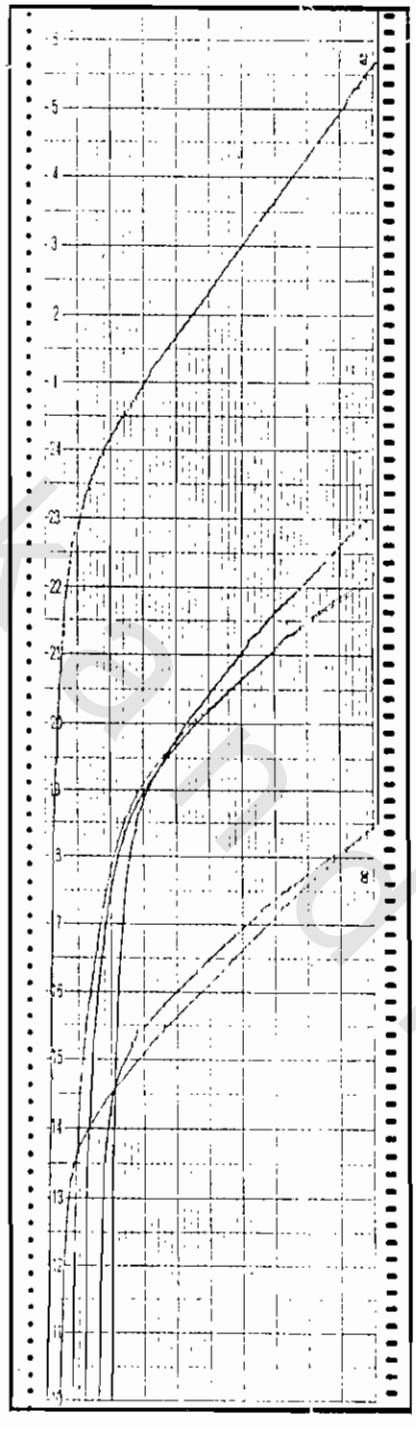
٣ - تشغيل مضخة لامرار تيار قليل من الهواء .

٤ - يقدر تعرض Proneness العينات للتزنخ أوتوماتيكيا - والشكل في الصفحة التاليه يبين

بدقة فترات الاعداد لعينات زيوت مختلفة والتي تبين نوعيات منها رديئه bad ومنها جيده جدا Verg good .

يختلف جهاز الرانسيمات عن جهاز فاريوج في أن الأكسوجين في الجهاز الثاني يستنزف باستمرار Progressively depleted علي العكس من جهاز الرانسيمات الذي يمرر خلال العينه تيار مستمر من الهواء وبالتالي فهو يشابه طرق التخزين العادية .

obeikandl.com



عينه زيت لها درجة
ثبات عالية ضد الاكسدة

عينات من زيوت لها درجة
ثبات متوسطة ضد الاكسدة

عينات من زيوت لها درجه
ثبات منخفضة ضد الاكسده

obeikandl.com

رقم البيروكسيد

Peroxide value

يعتبر تقدير رقم البيروكسيد كمقياس للبيروكسيدات الموجودة فى الزيت - ويلاحظ أثناء التخزين أن تكوين البيروكسيدات يكون بطيئا فى أول الامر خلال فترة الاعداد Induction period وهى تختلف فمن أسابيع قليلة الى عدة أشهر تبعا لنوع الزيت أو الدهن ، درجة الحرارة ... الخ ويقدر رقم البيروكسيد حجميا وهى تعتمد على تفاعل يوديد البوتاسيوم فى محلول حامضى مع الاكسوجين المرتبط يعقبه معايرة اليود المنفرد بواسطة ثيوكبريتات الصوديوم - وعادة يستخدم خليط من الكلوروفورم مع حامض الخليك كمذيب .

التعريف :

هو عدد المللىمكافئات من البيروكسيد الموجود فى ١ كيلو جرام زيت أو دهن .

الكيماويات المطلوبه :

حامض خليك - كلوروفورم - يوديد بوتاسيوم - ثيوكبريتات صوديوم - دليل النشا .

الزجاجيات المطلوبة :

دورق مخروطى سعته ٢٥٠ سم٣ - ماصه ١ سم٣ - سحاحه .

طريقة العمل :

١ - يوزن ٥ جم ± ٠.٠٥ جم من العينه فى دورق مخروطى ٢٥٠ سم٣ ثم يضاف ٣٠ سم٣ من محلول حامض خليك - كلوروفورم (٣ + ٢ ، حجم / حجم) .

٢ - يحرك الدورق حركه دورانيه حتى تنوب العينه ويضاف (١سم٣ من محلول يوديد بوتاسيوم مشبع بواسطة ماصه دقيقة ويترك المحلول لمدة دقيقة بالضبط مع الرج من حين لاخر ثم يضاف ٣٠ سم٣ ماء مقطر .

٣ - يعاير المخلوط بواسطة ٠.١ع ثيوكبريتات صوديم - تضاف الثيوكبريتات تدريجيا مع الرج الشديد الثابت لمحتويات الدورق وتستمر عملية المعايرة حتى يكاد يختفى اللون الأصفر - يضاف ٠.٥ سم٣ نشا (١٪) وتكمل عملية المعايرة مع الرج الشديد بالقرب من نقطة النهاية لانفراد اليود من طبقة الكلوروفورم وتضاف الثيوكبريتات نقطة نقطة حتى يختفى اللون الازرق .

obeikandl.com

٤ – اذا كانت كمية الثيوكبريتات التى أستخدمت فى المعايرة أقل من ٥ . ٠ سم^{٣} يعاد مرة اخرى التقدير باستعمال ثيوكبريتات قوتها ١ . ٠ . ٠ ع .

٥ – يجرى عمل بلانك يوميا على الجواهر الكشافه ويجب أن يكون حجم المعايرة للبلانك لا يزيد عن ١ . ٠ سم^{٣} من ١ . ٠ ع محلول ثيوكبريتات الصوديوم .

الحساب : يحسب رقم البيروكسيد من المعادله الاتية :

$$\text{رقم البيروكسيد (ملليمكافئات / كيلو جرام دهن)} = \frac{\text{حجم الثيوكبريتات} \times \text{ع} \times ١٠٠٠}{\text{وزن العينة}}$$

حيث أن ع = عيارية الثيوكبريتات .

تكون أرقام البيروكسيد فى حالة الزيوت المستخلصه حديثا Fresh أقل بدرجة كبيرة من ١٠ ملليمكافئات / كيلو جرام ويظهر الطعم المتزنخ بدرجة واضحة عندما يكون رقم البيروكسيد يقع ما بين ٢٠ – ٤٠ ملليمكافئات / كيلو جرام وتوجد طريقه أخرى تعطى نتائج سريعه وفيما يلى خطوات هذه الطريقه التى يجب أن تجرى بعيدا عن الضوء .

١ – يوزن ١ جم أو أقل من زيت أو دهن فى أنبوبة نظيفة جافه ثم يضاف ١ جم مسحوق يوديد بوتاسيوم ، ٢٠ سم٣ من خليط مذيب (٢ حجم حامض خليك ثلجى + ١حجم كلوروفورم) .

٢ – توضع الانبوبة فى حمام مائى يغلى بحيث يغلى السائل فى خلال نصف دقيقة وتظل للغليان الشديد لمدة لا تزيد عن نصف دقيقه وتنقل المحتويات بسرعة الى دورق يحتوى على ٢٠سم^{٣} من محلول يوديد بوتاسيوم (٥٪) وتغسل الانبوبة مرتين بواسطة ٢٥ سم^{٣} ماء .

٣ – تعاير محتويات الدورق بواسطة ٠٠٢ر٠ مولر ثيوكبريتات صوديوم فى وجود النشا .

٤ – يجرى بلانك تحت نفس الظروف .

٥ – وعادة يعبر عن رقم البيروكسيد بعدد المللىمترات من ٠٠٢ . ٠ ع ثيوكبريتات صوديوم لكل جرام عينه وعند ضرب هذه القيمة فى ٢ فإن الرقم الناتج يكون مساويا لعدد الملليمكافئات من البيروكسيد لكل ١ كيلو جرام عينه .

وهناك أخطاء errors تحدث عند تقدير رقم البيروكسيد مرجعها إلى أن اليود المنفرد يمتص بواسطة الروابط غير المشبعه فى الاحماض الدهنيه وعلى العكس من ذلك إنفراد اليود من يوديد البوتاسيوم بواسطة الاكسوجين الموجود فى المحلول الذى يجرى معايرته .

obeikandi.com

اختبار كريس

Kreis test

يشمل هذا التفاعل على إنتاج لون أحمر عند تفاعل الفلوروجليسينول مع الدهن المؤكسد فى محلول حامضى . واللون الناتج يتناسب طرديا مع الزيادة فى إنتاج الدهيد الايبيهيدرين Epihydrin aldehyde أو الدهيد حامض المالونيك malonaldehyde من الدهن أو الزيت .

الإختبار الوصفى :

١ - يرج ١٠ سم^{٣} زيت أو دهن مصهور بشده مع ١٠ سم^{٣} من محلول ٠,١٪ محلول فلوروجليسينول فى الاثير و ١٠ سم^{٣} حامض هيدروكلوريك مركز لمدة ٢٠ ثانيه . ثم تترك الانبوبة لمدة ١٠ دقائق مع ملاحظة اللون المتكون .

٢ - يدل ظهور لون قرمزى على بداية حدوث incipient التزنخ - إذا ما خفف الزيت بنسبة ١ : ٢٠ بواسطة الكيروسين ومازال الاختبار موجب بالنسبة للتزنخ فهذا يدل على الطعم والرائحة الغير مقبوله .

الإختبار الكمى :

١ - يوزن ٣ جم زيت أو دهن مصهور فى أنبوبة إختبار - يضاف ١ سم^{٣} من محلول فلوروجليسينول (٠,٥٪ وزن / حجم فى كحول أمايل) ويرج بشده لمدة دقيقة .

٢ - يضاف ٢ سم^{٣} من محلول يحتوى على ١٠ جم ثلاثى كلورو حامض خليك مذابا فى ٣,٢٨ سم^{٣} خلات أمايل وتغمر الانبوبة فى حمام مائى على درجة ٤٥مْ لمدة ١٥ دقيقة مع الرج المستمر .

٣ - ترفع الانبوبة من الحمام المائى وتخفف فى الحال بواسطة ١٠ سم^{٣} من محلول مثلج ناتج من تخفيف ١ حجم من ثلاثى كلورو حامض الخليك السابق ذكره مع ٢ حجم من خلات أمايل .

٤ - تقارن الكثافة اللونية فى الحال باستخدام Lovibond وتسجل أرقام وحدات الزجاج الاحمر .

٥ - يجرى بلانك فى نفس الوقت باستخدام خلات أمايل بدلا من محلول الفلوروجليسينول .

obeikandl.com

٦ – يحسب رقم كريس من المعادلة

$$T \quad \frac{R - RI}{LC}$$

حيث :

R = أرقام وحدات الزجاج الاحمر للعينه .

RI = أرقام وحدات الزجاج الاحمر للبلانك

L = طول الخليه (سم) .

C = تركيز الزيت (جم / سم) للمحلول النهائى .

وقد وجد أن رقم T لدهن الزبد الحديث يساوى تقريبا ٢٠ .

اختبار شتال Schaal test

يقدر هذا الاختبار مقاومة الزيوت والدهون ضد الاكسدة ويشمل على تسخين ٥ – ١٠٠ جم من العينه فى طبق مفتوح Open dish داخل فرن مضبوط على درجة حرارة ٦٣° + ٥ر٠م أو ٧٠ مْ حتى يبدأ التزنخ . وتفحص العينات على فترات منتظمه Regular intervals يوميا أو أسبوعيا معتمدا على مدى قابلية الدهن للاكسده ويحدد الزمن الذى عنده بدأ الاحساس ببداية التزنخ بخاصية الشم taste panel وبطبيعة الحال إذا كان الدهن له رائحة تزنخ فلا يمكن استخدام هذا الاختبار لمعرفة مدى مقاومة الزيت أو الدهن للتأكسد .

رقم الانيزيدين Anisidine test

تعتبر البيروكسيدات الناتجه من الزيوت المؤكسده بانها مركبات وسطيه حيث تنكسر Decompose وتعطى مركبات كربونيلية مختلفة ومركبات أخرى . ويزداد التكسير برفع درجة الحرارة وبالتالى ينخفض رقم البيروكسيد بتسخين الزيت فى غياب الهواء أو الاكسوجين والجدير بالذكر أنه تتم عمليات التبييض Bleaching وإزالة الرائحة deodorisation فى مراحل تكرير الزيت الخام فى غياب الهواء لمنع عمليات الاكسده .

ويلاحظ أن نواتج تكسير البيروكسيد تؤدى إلى زيادة الاكسدة أو انها تتكسر أو تتفاعل مرة اخرى لتعطى مركبات جديده لها رائحة غير مقبوله .

obeikandl.com

ويعرف رقم الانيزيدين على أنه يعادل ١٠٠ مرة إمتصاص محلول ناتج من تفاعل ١ جم زيت أو دهن فى ١٠٠ سم٣ مخلوط من المذيب والبارا أنيزيدين عند طول موجه ٣٥٠ نانومتر باستخدام خليه ١ سم٣ .

ويقدر رقم الانيزيدين للدهن بمعاملته بواسطة الجوهر الكشاف بارا أنيزيدين فى محلول الأوكتان المشابه Iso - Octane وتقدر تركيزات نواتج التفاعل إسبكتروسكوبيا على طول موجه ٣٥٠ نانومتر – وهذا الاختبار يقدر تركيز الألدهيدات وبصفه أساسيه ألدهيدات غير المشبعه 2 - alkenals الموجوده بالزيت .

ولتنقية بلورات الانيزيدين يتم بذوبان ٤٠ جم بارا أنيزيدين فى واحد لتر ماء مقطر على درجة ٧٥مْ ثم يضاف ٢٠ جم فحم نباتى ، ٢ جم كبريتيت صوديوم الى المحلول الذى يرج بعد ذلك لمدة ٥ دقائق ويرشح ويبرد المترشح على درجة الصفر المئوى ويترك على هذه الدرجة لمدة لا تقل عن ٤ ساعات . ثم تفصل البلورات بالترشيح ويفضل أن تتم هذه الخطوة تحت تفريغ ثم تغسل بكميات قليلة من الماء درجة حرارتها صفر ثم تجفف فى مجفف تحت تفريغ – ويجب إستخدام البلورات قبل حدوث أى تغير فى اللون ولونها الطبيعى هو سمنى Cream ويجب حفظها على درجة صفر – ٤ مْ فى زجاجات غامقه ولا تعرض للضوء وهذه البلورات سامه ويجب أن لا تلامس الجلد مباشرة .

تحضير الجوهر الكشاف :

يذاب ٠.٢٥ جم بارا أنيزيدين فى ١٠٠ سم٣ حامض خليك ثلجى يحفظ هذا الجوهر الكشاف بعد تحضيره فى زجاجات بنيه اللون وعلى درجة حرارة أقل من ٥ . ٠مْ ويستخدم فقط فى خلال ٣ أيام من التحضير ويجب أن تكون العينات والجواهر الكشافه جافه وبصفه خاصة حامض الخليك ويمكن إزالة آثار الماء منه باضافة أندريد حامض الخليك .

طريقة العمل :

١ – يوزن ٥ . ٠ جم من عينة الزيت أو الدهن الجاف فى دورق معيارى سعة ٢٥ سم٣ ويملأ هذا الدورق الى العلامة بواسطة الاوكتان المشابه الذى له إمتصاص قيمته صفر عند الاطوال الموجيه ٣٠٠ – ٣٨٠ نانومتر .

٢ – يؤخذ ٥ سم٣ من هذا المحلول فى أنبوبة إختبار لها سداده وتجهز أنبوبة أخرى محتوية على ٥ سم٣ أوكتان المشابه ثم يضاف اليها ١ سم٣ من الجوهر الانيزيدين تقفل الانبوبتين

وترج جيدا . وتترك فى الظلام على درجة ٢٥م ± ١م لمدة ٨ دقائق تقريبا – تنقل المحاليل الى خلايا جهاز الاسبكتروفوتومتر وبعد ١٠ دقائق بالضبط من خلط الجوهر الانيزيدين مع المحلول المختبر تقدير قيمة الامتصاص لهما .

٣ – يحسب رقم الانيزيدين من المعادله التالية :

$$\text{رقم الانيزيدين} = \frac{٢٥\ (١.٢\ ب - أ)}{جـ}$$

حيث :

أ = إمتصاص محلول الزيت أو الدهن

ب = إمتصاص نواتج الزيت أو الدهن مع الجوهر الكشاف .

جـ = وزن الزيت أو الدهن (جم) الموجود فى ٢٥ سم٣ من المحلول .

والمعامل ١.٢ المذكور فى المعادله ناتج من أن محلول الزيت أو الدهن مع الانيزيدين قد خفف باضافة محلول الجوهر الانيزيدين فى حين لم يخفف محلول الزيت أو الدهن نفسه .

رقم التوتوكس Totox Value

يعتمد هذا الاختبار على استخدام ارقام البيروكسيد والانيزيدين معا لحساب رقم الاكسده الكلى Total Oxidation (Totox) ويحسب هذا الرقم من المعادلة :

رقم الاكسدة الكلى = ٢ (رقم البيروكسيد) + رقم الانيزيدين

وفى حالة النوعية الجيدة من الزيت يكون رقم الانيزيدين لها أقل من ١٠ – وفى حالات قليلة للزيوت أو الدهون يكون لها أرقام محسوسه لكل من أرقام البيروكسيد والانيزيدين وهذا يدل على بداية فى زيادة التلف .

رقم حامض الثيوباربيتيوريك

Thiobarbituric acid number (TBA)

تظهر وتزداد الصبغة الحمراء الناتجة من تفاعل حامض الثيوباربيتيوريك مع الليبيدات المؤكسدة مع زيادة التزنخ الاكسيدى ويعتبر إختبار TBA كمقياس لمدى التلف سواء لليبيدات المستخلصة وغير المستخلصة من مصادر غذائية وعلى ذلك يستخدم هذا الاختيار بصفه عامة للأطعمة الدهنية بالاضافة الى الزيوت والدهون النقية .

ويجرى التفاعل بتسخين اللحم Flesh مع جوهر كشاف TBA واستخلاص اللون بواسطة خليط من الكحول والبيريدين – كما يجرى التفاعل مع مستخلصات ثلاثى كلوروحمض خليك للسمك – ويعبر عن النتائج بأنها عبارة عن الدهيد حامض المالونيك باستخدام منحنى قياسى يحضر باستخدام ١ و ١ و ٣ و ٣ رباعى ايثوكسى بروبان والذى يعطى الدهيد حامض المالونيك بالتحليل الحامضى ، ويعرف رقم TBA بأنه عدد ملليجرامات الدهيد حامض المالونيك / كيلو جرام وفيما يلى خطوات تقدير رقم TBA فى الزيوت والدهون .

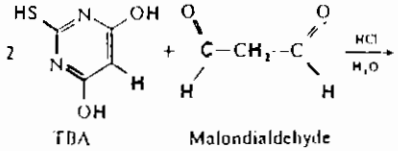
١ – تؤخذ وزنه من الزيت أو الدهن (٥ . ٠ جم) وتخلط جيدا مع جوهر كشاف حامض الثيوباربيتيوريك (٥ سم^{٣} – ٣ . ٠٪ مذابا فى ٩٠٪ حامض خليك) .

٢ – تمزج مكونات العينه جيدا وتسخن فى حمام مائى لمدة نصف ساعة .

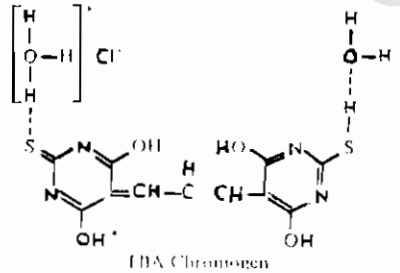
٣ – يجرى بلانك باضافة جميع الجواهر الكشافه بدون الدهن أو الزيت .

٤ – بعد التبريد تقاس كثافة الامتصاص عند طول موجة ٥٣٨ نانومتر .

وفيما يلى ميكانيكية حدوث التفاعل :



TBA Malondialdehyde



TBA Chromogen

وفيما يلى تقييم للطرق السابق ذكرها لتقدير تزنخ الليبيدات :

تتكون الهيدروبيروكسيدات عند تخزين الدهون الموجودة فى الاغذية وتنكسر تدريجيا ويعتبر اختبار الحديد اكثر الطرق اللونيه (الفوتومترية) للكشف عن الاكسده الذاتيه ونظرا لتداخل مكونات الاغذية مع البيروكسيدات فانها تتحلل بسرعة جدا . كما أن تكسير البيروكسيدات الناتجه من حامض اللينوليك أو اللينولينيك تعطى بجانب مركبات أخرى مركبات تحتوى على روابط زوجيه ثنائيه متبادله وعلى ذلك فتعتبر طريقة تقدير الامتصاص عند طول موجه ٢٣٤ فى بعض الحالات من أكثر الطرق حساسية للكشف عن بداية أكسدة الليبيدات .

تعتبر عملية تقدير المركبات الكربونيلية الناتجه من الاكسدة الذاتية غير دقيقة فى وجود البيروكسيدات وقد وجد أن طريقة تقدير الهبتانال أكثر الطرق حساسية الا أنه عند استخدام الاحماض فى التقدير فانها تؤدى الى تكوين مجاميع كربونيل إضافيه من البيروكسيدات وبهذه الطريقة فان النتائج تكون أعلى من القيمة الحقيقية والجدير بالذكر أنه يتكون آثار من المركبات الكربونيلية من الدهن المتزنخ .

وتعتبر طرق الانيزيدين وكريس غير مناسبة للكشف عن أكسدة الليبيدات لانها غير حساسه وغير متخصصه وبالنسبه لطريقة حامض الثيوباربيتيوريك فهناك مقترحات عديدة لزيادة حساسية هذا الاختبار منها إضافة أيونات الحديديك التى تتفاعل مع الهيدروبيروكسيدات ويتلاشى تأثيرها (J, Biol. Chem. 250: 8814 1975) ويرجع الارتفاع فى قيم إختبار حامض الثيوباربيتيوريك عن الارقام الحقيقية الى انكسار Breakdown البيروكسيدات التى تتفاعل مع TBA هذا بالإضافة الى أنه تحت الظروف القاسية Drastic التى يجرى عليها التفاعل يحدث زيادة فى معدل الاكسدة الذاتية وبالتالى زيادة فى كمية البيروكسيدات ويتبعها زيادة فى المركبات الكربونيليه .